

Determinants of energy and substrate metabolism

Citation for published version (APA):

Schrauwen, P. (1998). *Determinants of energy and substrate metabolism*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Shaker Publishing. <https://doi.org/10.26481/dis.19981112ps>

Document status and date:

Published: 01/01/1998

DOI:

[10.26481/dis.19981112ps](https://doi.org/10.26481/dis.19981112ps)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Obesity is becoming a major health problem in affluent societies and the prevalence of obesity is still increasing. The consumption of a high-fat diet and a decreased physical activity are factors that have been considered as the most important environmental factors promoting the development of obesity. Dietary fat is the most energy dense macronutrient (38 kJ/g vs 17 kJ/g for carbohydrate and protein) and therefore the consumption of high-fat diets will easily lead to overconsumption. Furthermore, it has been shown that fat intake does not result in an immediate increase in fat oxidation and therefore the fat will be stored. In chapter 3 we showed that it took seven days before fat oxidation was raised sufficiently to match fat intake, when diet composition was iso-energetically switched from low-fat to high-fat. Subjects were fed at energy balance in a respiration chamber and fat oxidation gradually increased after the switch from low-fat to high-fat. As a result, subjects were in negative carbohydrate balance during the first days on the high-fat diet. This must have resulted in a lowering of the glycogen stores. In chapter 4 we showed that, most likely, lowering of the glycogen stores was responsible for the increased fat oxidation observed after seven days on the high-fat diet. After glycogen-lowering exercise, fat oxidation could be increased rapidly to match a high-fat intake. These results are in concordance with the two-compartment model of Flatt, which states that fat oxidation can be increased by 1) maintaining glycogen stores in a lower range, or by 2) expansion of the fat mass. In chapter 5 we showed that obese subjects had the same capacity to rapidly increase fat oxidation to match fat intake on a high-fat diet, after glycogen lowering exercise. This was unexpected, because it had been suggested that obese subjects have an impaired fat oxidation capacity. Together these results indicate that glycogen stores play a role in determining fat oxidation and suggest that physical activity, which lowers glycogen stores, might be helpful in the handling of high-fat diets and thus in the prevention of obesity.

To achieve more insight in the mechanisms behind the effects of high-fat diets on fat oxidation, we used stable isotope techniques to measure the components of fat oxidation. Using respiration chambers only whole-body fat oxidation can be assessed, using stable isotope infusions this whole-body fat oxidation can be divided into the oxidation of plasma-derived fatty acids and non-plasma (VLDL-triglycerides, intramuscular triglycerides) fatty acids. In chapter 7 we showed, with infusion of labeled (stable) ^{13}C -palmitate and measurement of $^{13}\text{CO}_2$ production, that part of the increase in whole-body fat oxidation after seven days on a high-fat diet was achieved by an increase in non-plasma fatty acid oxidation. This is interesting because the contribution of non-plasma fatty acid oxidation to total fat oxidation is still under debate and not completely understood. The main reason for the latter is that the use of ^{13}C fatty acid tracers to estimate fat oxidation has long time been questioned. Part of the label (^{13}C) is accumulated in products of the TCA cycle and does not appear in breath. Therefore, the calculation of ^{13}C -palmitate oxidation will be underestimated.

Recently it has been suggested that the accumulation of tracer in the TCA cycle can be estimated by measuring the recovery of $^{13}\text{CO}_2$ after infusion of ^{13}C -acetate, which can not be stored in the body and immediately enters the TCA cycle. In chapter 6 we validated this "acetate recovery factor" and determined the inter- and intrasubject coefficient of variation. We showed that the acetate recovery factor can be used to estimate loss of tracer in the TCA cycle, but has a large intersubject coefficient of variance and thus has to be determined in each individual separately. Furthermore, we showed that the recovery factor increases with infusion time and thus has to be determined at similar time points as the measurement of ^{13}C palmitate oxidation. Failure to correct the oxidation of labeled plasma fatty acid oxidation for loss of label in the TCA cycle leads to dramatic underestimation.

Apart from environmental factors, also genetic factors play a role in the development of obesity. Some individuals are more susceptible to become obese than others. Recently some genes were discovered, which were associated with obesity. In 1994, the *ob*-gene was discovered. This gene encodes for the adipose tissue hormone, leptin, which has an effect on food intake and energy expenditure. A strain of extremely obese mice (*ob/ob*) has a mutation in this gene and therefore does not produce leptin. Another strain of extremely obese mice (*db/db*) has a mutation in the gene encoding for the leptin receptor and therefore leptin can not exert its effects. These results suggest that leptin might be an important factor in the regulation of body weight and the development of obesity. Because it is known that high-fat diets are fattening, we examined the effect of diet composition on leptin levels. In chapter 8 we showed that leptin levels were correlated with body fat percentage, as was shown before, and that acute switching from a low-fat diet to a high-fat diet had no direct effect on leptin levels in lean human subjects. However, more information is required to understand the role of leptin in human obesity.

Two other recently and previously undescribed obesity genes are UCP2 and UCP3. These genes encode for uncoupling proteins, which uncouple oxygen consumption from ATP production. In this way energy can be dissipated as heat, and thus UCPs might play an important role in the regulation of energy metabolism. In chapter 10 we showed that UCP3 mRNA expression was positively correlated with sleeping metabolic rate and negatively with BMI. This indicates that a low UCP3 mRNA expression is associated with a low SMR. Previously it had been shown that a low SMR is an important determinant of weight gain and thus UCP3 might play a role in the development of obesity. This is consistent with the negative correlation between UCP3 and BMI. In chapter 11 we compared UCP2 and UCP3 mRNA expression in trained and untrained subjects. We found that the UCP3 mRNA expression, when expressed per mitochondria, was decreased in endurance trained subjects compared to untrained subjects. Furthermore we found a negative correlation between UCP3 mRNA expression and mechanical efficiency. These results suggest that endurance training might down regulate UCP3 expression, improving energy efficiency. Taken together, the results suggest that UCPs are important determinants of energy metabolism and might play a role in the development of obesity. More studies are necessary to investigate the exact role of these UCPs in human energy metabolism.

Samenvatting

De prevalentie van obesitas neemt de laatste jaren toe in de westerse samenleving. Obesitas ontstaat doordat de energie-inname groter is dan het energiegebruik. Een lage fysieke activiteit en de consumptie van voedsel met een hoog vetgehalte zijn factoren die een positieve energie balans en daarmee ook het ontstaan van obesitas bevorderen. Van de drie macronutriënten is vet het macronutriënt met de hoogste energiedichtheid (38 kJ/g vs 17 kJ/g voor koolhydraat en eiwit) en daarom zal het consumeren van voedsel met een hoog vetgehalte gemakkelijk tot overconsumptie leiden. Bovendien heeft onderzoek aangetoond dat de inname van vet de vetverbranding niet acuut stimuleert, met als gevolg dat er vet zal worden opgeslagen. Flatt heeft de effecten van fysieke activiteit en de consumptie van voedsel met een hoog vetgehalte op de vetverbranding verklaard door middel van een twee-compartimenten model. Volgens dit model wordt het verbrandingssubstraat bepaald door de omvang van de twee belangrijkste substraatvoorraden in het lichaam: de vetvoorraad en de glycogeenvoorraad. De vetverbranding kan verhoogd worden door 1) het verkleinen van de glycogeenvoorraad of 2) door het vergroten van de vetmassa. In het algemeen wordt aangenomen dat de consumptie van voedsel met een hoog vetgehalte zal leiden tot overconsumptie en dus een toename van de lichaamsvetmassa. Dit zal vervolgens leiden tot een toename van de vetverbranding, totdat de vetverbranding gelijk is aan de vetinname en er dus een nieuwe balans is ontstaan. De rol van de glycogeenvoorraad in de vetverbranding is nog weinig onderzocht. Daarom is de rol van de glycogeenvoorraad op de vetverbranding bestudeerd in de hoofdstukken 3 t/m 5 van dit proefschrift. Door middel van indirecte calorimetrie werd gedurende 7 dagen de vetverbranding en koolhydraatverbranding gemeten terwijl voedsel met een hoog vetgehalte werd geconsumeerd. Gedurende deze 7 dagen werden de proefpersonen in energiebalans gevoed, zodat de lichaamsvetmassa niet veranderde. Het bleek dat de vetverbranding geleidelijk toenam en na 7 dagen gelijk was aan de vetinname. De eerste dagen waren de proefpersonen dus in een positieve vetbalans en een negatieve koolhydraatbalans, wat geleid moet hebben tot een geleidelijke afname van de glycogeenvoorraad. Volgens het twee-compartimenten model van Flatt kan deze afname van de glycogeenvoorraad de toename in vetverbranding verklaren. Daarom werd vervolgens onderzocht of een inspanning-geïnduceerde verlaging van de glycogeenvoorraad een snellere verhoging van de vetverbranding veroorzaakt. Na een inspanningstest, die de glycogeenvoorraad verlaagde, nam de vetverbranding binnen 24 uur toe, zowel bij mensen met als zonder obesitas. Deze resultaten onderschrijven het model van Flatt en onderstrepen de rol van de glycogeenvoorraad bij de vetverbranding. Lichamelijke activiteit, en daarmee verlaging van de glycogeenvoorraad, lijkt dan ook een belangrijk onderdeel in de preventie en behandeling van obesitas.

In de bovenstaande onderzoeken is de vetverbranding gemeten met indirecte calorimetrie. Hiermee kan alleen de totale vetverbranding gemeten worden. Met behulp van het intraveneus infunderen van vetzuren, waarvan het koolstofatoom gemerkt is (^{13}C), kan deze vetverbranding verder worden onderverdeeld in de verbranding van vrije vetzuren uit het plasma en uit spiertriglyceriden. Het gemerkt koolstof zal, na oxidatie, in de uitademingslucht verschijnen als $^{13}\text{CO}_2$ en is daarmee een maat voor de verbranding van plasma vetzuren. Een nadeel van deze methode is dat een deel van het gemerkte koolstof niet in de uitgedemde koolstofdioxide terecht zal komen, omdat dit in de citroenzuurcyclus wordt uitgewisseld met ongemerkt (^{12}C) koolstof. Hierdoor wordt de plasma vetzuuroxidatie onderschat. Recentelijk is voor dit probleem een oplossing gevonden: door het infunderen van ^{13}C -acetaat kan een schatting worden gemaakt van de fractie gemerkt koolstof die in de citroenzuurcyclus uitgewisseld wordt. Omdat er geen opslagvorm voor acetaat in het lichaam is, moet 100% van het geïnfundeerde acetaat de citroenzuurcyclus in gaan. Het verschil tussen de hoeveelheid ^{13}C die geïnfundeerd is en de hoeveelheid die in $^{13}\text{CO}_2$ teruggevonden wordt, is een maat voor het verlies van ^{13}C koolstof in de citroenzuurcyclus en kan als correctiefactor worden gebruikt bij de bepaling van de plasma vetzuuroxidatie. In hoofdstuk 6 bleek dat de correctiemethode valide is, maar een grote variabiliteit tussen individuen vertoont, waardoor de correctiefactor in elk individu opnieuw bepaald moet worden. Bovendien is de correctiefactor tijdsafhankelijk en moet dus op meerdere tijdstippen bepaald worden. In hoofdstuk 7 werd met behulp van deze correctiefactor aangetoond dat de toename in vetverbranding na 7 dagen consumeren van voedsel met een hoog vetgehalte gepaard ging met een toename van de spiervetoxidatie. Dit is een opvallende bevinding omdat verwacht werd dat bij consumptie van voedsel met een hoog vetgehalte de plasma vetzuuroxidatie toe zou nemen, door een toename van de lipolyse.

Naast gedragsfactoren, zoals fysieke activiteit en de voedselkeuze, die kunnen leiden tot het ontstaan van obesitas, spelen ook genetische factoren een rol. Sommige individuen hebben meer aanleg voor obesitas dan anderen. Recentelijk zijn er een aantal genen ontdekt die in verband worden gebracht met obesitas. In 1994 werd het ob-gen ontdekt. Dit gen codeert voor een hormoon dat gesecreteerd wordt door het vetweefsel, leptine. Leptine heeft een effect op de voedselinname en het energiegebruik. In twee rassen muizen zijn mutaties gevonden in respectievelijk het ob-gen, waardoor ze geen leptine produceren en in het gen dat codeert voor de leptine receptor, waardoor leptine zijn werking niet kan hebben. Beide muizenrassen zijn extreem obees. Deze resultaten suggereren dat leptine een belangrijke rol speelt bij de regulatie van het lichaamsgewicht en daarmee het ontstaan van obesitas. Ook in het vetweefsel van de mens wordt leptine gesecreteerd en de plasma leptine concentratie is sterk gecorreleerd met de lichaamsvetmassa. Omdat leptine een effect heeft op de voedselinname is in hoofdstuk 8 onderzocht of de consumptie van voedsel met een hoog vetgehalte een effect heeft op de plasma leptine concentratie. Het bleek dat de plasma leptine concentratie niet beïnvloed werd door de consumptie van vet voedsel, maar de relatie tussen lichaamsvetmassa en plasma leptine concentratie werd wel bevestigd. Het lijkt daarom dat leptine in de mens een minder

eenduidige rol speelt bij de regulatie van het lichaamsgewicht dan bij de eerder genoemde muizen.

Twee andere recent ontdekte genen zijn *UCP2* en *UCP3*. Deze genen coderen voor ontkoppelingseiwitten, *UCP2* en *UCP3*, die de zuurstofconsumptie ontkoppelen van ATP productie. Hierdoor gaat energie verloren als warmte. Deze ontkoppelingseiwitten kunnen dan ook een belangrijke rol spelen in de regulatie van het energiemetabolisme. In hoofdstuk 10 en 11 bleek dat de hoeveelheid mRNA, de voorloper van het eiwit, van met name *UCP3* in de skeletspier positief gecorreleerd was met het energiegebruik tijdens slaap en negatief gecorreleerd was met de Quetelet index. Het was reeds bekend dat een laag energiegebruik tijdens slaap een factor is die gewichtstoename bevordert en dus kan *UCP3* een rol spelen in het ontstaan van obesitas. Verder bleek dat de hoeveelheid mRNA voor *UCP2* en *UCP3* bij duurgetrainde proefpersonen lager was dan bij ongetrainde, inactieve proefpersonen. Bovendien was de hoeveelheid mRNA voor *UCP3* negatief gecorreleerd met de mechanische efficiëntie van de proefpersonen. Dit toont aan dat duurtraining de hoeveelheid mRNA voor *UCP3* verlaagt waardoor de energetische efficiëntie kan toenemen. Samengevat suggereren deze resultaten een belangrijke potentiële rol voor ontkoppelingseiwitten in het energiemetabolisme en het ontstaan van obesitas.